

PARTIAL TRANSLATION OF JP 2002-350732 A

Publication Date: December 4, 2002
Patent Application Number: 2001-156706
Filing Date: May 25, 2001
Inventor: Tatsuro OTAKI
Applicant: NIKON CORP

[Title of the Invention] FLUORESCENT OBSERVATION APPARATUS

(Page 2, column 2, lines 12-15)

[0006]

With the foregoing in mind, it is an object of the present invention to provide a fluorescent observation apparatus that does not require a wavelength selection filter, uses a small light source to generate no heat, and has long life.

(Page 3, column 3, line 11 - column 4, line 40)

[0014]

[Embodiment of Invention]

FIG. 1 is a schematic diagram showing an optical system of a fluorescence microscope of an example of an embodiment of the present invention. In FIG. 1, rays of light emitted from light-emitting diodes 1, 2, and 3 (light sources) are focused on an image-side focal position of an objective lens 23 through lenses 21, 22 and a dichroic mirror 13 that are located in an illuminator 20. Then, the rays of light focused on the image-side focal plane of the objective lens 23 are converted to parallel light that illuminates the surface of a specimen placed on a stage 32. The light-emitting diodes with different wavelengths are used as the light sources. For example, blue, green, and red light-emitting diodes may be used as the light sources 1, 2, and 3, respectively.

[0015]

A current supply device 30 can control the blinking of the light-emitting diodes for each wavelength. Therefore, the light-emitting diodes that emit light with the corresponding wavelengths as needed are turned on selectively to illuminate a specimen. The light-emitting diodes are arranged two-dimensionally in a plane perpendicular to the optical axis

and spaced at regular intervals. It is preferable that the current supply device 30 controls the intensity of illumination light by controlling the value of a current that flows through each of the light-emitting diodes.

[0016]

FIG. 2 shows an example of the light source arrangement in detail. In FIG. 2, the left is a cross-sectional view and the right is a diagram when viewed from the direction of the optical axis. The light-emitting diodes with different colors, i.e., blue 1, green 2, and red 3 are arranged in a plane perpendicular to the optical axis in a well-balanced manner. These light-emitting diodes are adjusted so that the direction of divergence of light in the center is parallel to the optical axis. In FIG. 1, all the light-emitting diodes are arranged on conjugate planes of the image-side focal plane (a front focal plane on the illumination side) of the objective lens 23. Therefore, light emitted from each of the light sources is focused to Kohler-illuminate a specimen by the objective lens 23. Thus, the specimen can be illuminated by light with uniform intensity.

[0017]

A fluorescent beam that is generated from the specimen and has a different wavelength from the illumination wavelength is focused by the objective lens 23, transmitted through the dichroic mirror 13, selected by a wavelength selection filter 14, and forms an observation image by an imaging lens 24. The observation image is bent by mirrors 15, 16 so that an observer easily can see the image, and is magnified through an eyepiece 25. Then, the magnified image is offered to the eye 26 of the observer.

[0018]

The mirror 15 is arranged movably. Therefore, when the beam deviates from the optical path, an observation light 18 is formed, picked up by an imaging device 33 such as CCD, and is displayed on a monitor 34.

[0019]

The following is an example of the relationship between the wavelength of a light-emitting diode and a specimen. When a specimen including fluorescein, i.e., a fluorescent reagent that is used often in the field of biology, it is preferable to use a blue light-emitting diode with a wavelength of 475 nm, a dichroic mirror that reflects light with a wavelength shorter than 505 nm and transmits light with a wavelength longer than 505 nm, and a wavelength selection filter that transmits light with a wavelength of not less than 520 nm.

[0020]

Moreover, three light-emitting diodes that emit light with a wavelength of 400 to 500 nm, 500 to 600 nm, and 600 to 700 nm can be selected to illuminate a specimen by blue, green, and red excitation light, respectively. When a recently developed light-emitting diode that emits light in an ultraviolet region is provided, it is also possible to use ultraviolet light as excitation light.

[0021]

The dichroic mirror 13 and the wavelength selection filter 14 may be exchanged in accordance with the wavelength of the light-emitting diodes selected. Alternatively, a single dichroic mirror and a single wavelength selection filter may be used if they have a multi-band spectral transmittance.

[0022]

[Effect of Invention]

As described above, the present invention can provide a desired fluorescent observation apparatus using an inexpensive light-emitting diode and a simple optical system configuration. Therefore, the apparatus can reduce cost as a whole. Moreover, the apparatus is suitable for long time operation because the life of a light-emitting diode is long. By switching light-emitting diodes with different wavelengths according to purposes, an excitation filter, which has been used in a conventional fluorescence microscope or the like, is not required. Accordingly, the configuration is simplified, and no illumination light with other wavelengths is generated. This reduces the background and improves a S/B ratio. Since a light-emitting diode is small in size, consumes less power, and generates no heat, the apparatus of the present invention substantially can eliminate heat generation that has been a problem of a microscope.

(19) 日本国特許庁 (J P)

(12) 公開特許公報 (A)

(11) 特許出願公開番号
特開2002-350732
(P2002-350732A)

(43) 公開日 平成14年12月4日 (2002.12.4)

(51) Int.Cl. ⁷	識別記号	F I	テーマコード (参考)
G 0 2 B 21/00		G 0 2 B 21/00	2 G 0 4 3
G 0 1 N 21/64		G 0 1 N 21/64	E 2 H 0 5 2
G 0 2 B 21/06		G 0 2 B 21/06	

審査請求 未請求 請求項の数 3 O L (全 4 頁)

(21) 出願番号 特願2001-156706(P2001-156706)

(22) 出願日 平成13年5月25日 (2001.5.25)

(71) 出願人 000004112

株式会社ニコン

東京都千代田区丸の内3丁目2番3号

(72) 発明者 大瀧 達朗

東京都千代田区丸の内3丁目2番3号 株式会社ニコン内

(74) 代理人 100094846

弁理士 細江 利昭

Fターム(参考) 2G043 AA03 EA01 FA02 FA06 GA06

GB01 GB18 HA01 HA09 JA03

LA03 MA01

2H052 AA09 AC02 AC04 AC12 AC14

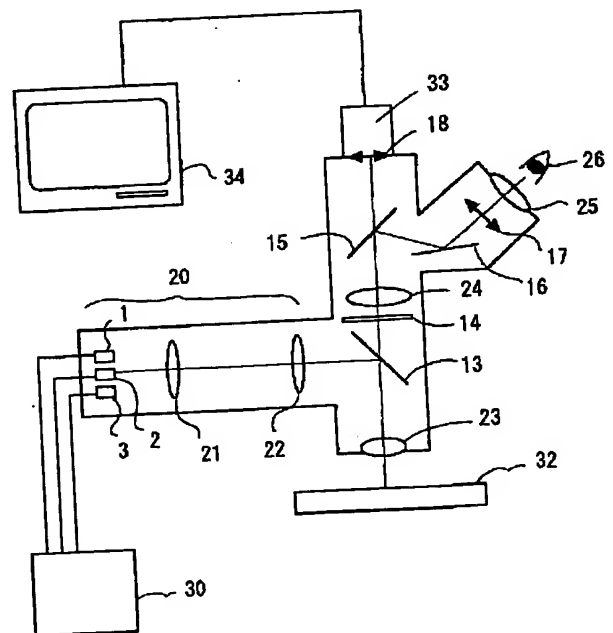
AC30 AC33 AF14

(54) 【発明の名称】 蛍光観察装置

(57) 【要約】

【課題】 波長選択フィルターを必要とせず、かつ、光源が小型で熱を発生せず、寿命の長い蛍光観察装置を提供する。

【解決手段】 試料より発生した、照明波長とは異なる波長の蛍光光束は、対物レンズ23で集光され、さらに、ダイクロイックミラー13を透過して、波長選択フィルター14によって選択され、結像レンズ24によって観察像17が形成される。観察像は観察者に観察しやすいようにミラー15、16で折り曲げられ、接眼レンズ25を介して拡大され、観察者の肉眼26で観察される。試料より発生した、照明波長とは異なる波長の蛍光光束は、対物レンズ23で集光され、さらに、ダイクロイックミラー13を透過して、波長選択フィルター14によって選択され、結像レンズ24によって観察像17が形成される。観察像は接眼レンズ25を介して拡大され、観察者の肉眼26で観察される。



【特許請求の範囲】

【請求項1】 試料に照明光を照射して前記試料から発生する蛍光を観察する蛍光観察装置であって、光源と、対物レンズとを備え、前記光源が、異なる波長の光を放出する複数の発光ダイオードからなることを特徴とする蛍光観察装置。

【請求項2】 請求項1に記載の蛍光観察装置であって、前記複数の発光ダイオードが、前記対物レンズの像側焦点面又は像側焦点面の共役面内に配置されていることを特徴とする蛍光観察装置。

【請求項3】 請求項1又は請求項2に記載の蛍光観察装置であって、各波長の光を放出する発光ダイオードが、それぞれ複数個設けられていることを特徴とする蛍光観察装置。

【発明の詳細な説明】

【0001】

【発明の属する技術分野】 本発明は、蛍光顕微鏡等の蛍光観察装置に関するものである。

【0002】

【従来の技術】 従来、試料にある特定範囲の波長の照明光を照射して、試料から発生する蛍光を観察する装置として、蛍光顕微鏡などの蛍光観察装置が知られている。図3に、従来用いられている蛍光顕微鏡の光学系の概要図を示す。光源としての水銀ランプ11から紫外線を含む連続スペクトルの光束が発生する。光源から発せられた光束は、投光管20に配置されたレンズ21、22とダイクロイックミラー13を介して対物レンズ23の像側焦点位置に結像される。ダイクロイックミラー13と光源11の間には励起フィルターと呼ばれる波長選択フィルター12が配置され、特定の波長のみを選択して透過させる。光束は、対物レンズ23を通過後、平行光束となって試料面を照明する。

【0003】 試料は、照明光を受けて照明光の波長とは異なる波長の蛍光を発生し、その蛍光の光束は対物レンズ23で集光される。集光された光束は、ダイクロイックミラー13を透過して、波長選択フィルター14に入射する。波長選択フィルターでは、所定の波長の蛍光のみが選択されて透過される。透過した波長の光束は、結像レンズ24、ミラー15、16を介して結像され、観察像17が形成される。観察像17は接眼レンズ25によって拡大され、観察者の肉眼26で観察される。ミラー15は移動可能とされており、ミラー15が光路から外れた場合には、観察像18がCCDなどの撮像素子33の撮像面に形成されて撮像され、モニタ34上で観察される。

【0004】 観察試料に応じて異なった蛍光を観察することができるように、波長選択フィルター12とダイクロイックミラー13および波長選択フィルター14は、観察試料に応じてそれぞれ交換して使用可能とされている。

【0005】

【発明が解決しようとする課題】 上記のような従来の蛍光観察装置では、光源に高圧水銀ランプを用いている。水銀ランプの特徴としては連続した波長の照明光が得られる反面、特定の波長を選択するために励起フィルターと呼ばれる波長選択フィルター12が必要である。また水銀ランプの連続点灯時間は百時間前後と短いの、ランプの交換等のメンテナンスに手間がかかるという問題がある。さらに頻繁なランプの交換は維持費の増加につながる。さらに水銀ランプは大きさも大きく、また、熱が発生するという問題がある。

【0006】 本発明はこのような事情に鑑みてなされたものであり、波長選択フィルターを必要とせず、かつ、光源が小型で熱を発生せず、寿命の長い蛍光観察装置を提供することを課題とする。

【0007】

【課題を解決するための手段】 前記課題を解決するための第1の手段は、試料に照明光を照射して前記試料から発生する蛍光を観察する蛍光観察装置であって、光源と、対物レンズとを備え、前記光源が、異なる波長の光を放出する複数の発光ダイオードからなることを特徴とする蛍光観察装置（請求項1）である。

【0008】 本手段においては、光源に発光ダイオードを使用している。発光ダイオードの放光は半値幅が10～30nm程度の限られた範囲の波長であるので、連続スペクトルを有する光を放出する水銀ランプを使用する場合と異なり、波長選択フィルターを必要としない。よって、構成が簡単になる。また、連続スペクトルを波長選択フィルターで選択する場合は、どうしても目的の波長の前後の波長の光を除去することができず、これらの光が背景光（バックグラウンド）となってS/B比（信号とバックグラウンドノイズとの比）を低下させるが、本手段においては、このようなことがないので、S/B比を高くすることができる。

【0009】 さらに、発光ダイオードの寿命は極めて長いので、水銀ランプのように頻繁に交換する必要がない。さらに本手段においては、異なる波長の光を放出する複数の発光ダイオードを光源に使用しているので、発光ダイオードを切り替えることにより、異なる波長の励起光を照射することができる。また、顕微鏡で問題になる熱の発生もほとんど無い。

【0010】 前記課題を解決するための第2の手段は、前記第1の手段であって、前記複数の発光ダイオードが、前記対物レンズの像側焦点面又は像側焦点面の共役面内に配置されていることを特徴とするもの（請求項2）である。

【0011】 本手段においては、光源である発光ダイオードが、対物レンズの像側焦点面又は像側焦点面の共役面内に配置されているので、試料を照射する照明がケラー照明となる。よって、光源に明るさのむらがあつて

も、試料を様な照明強度で照明することが可能となる。

【0012】前記課題を解決するための第3の手段は、前記第1の手段又は第2の手段であって、各波長の光を放出する発光ダイオードが、それぞれ複数個設けられていることを特徴とするもの（請求項3）である。

【0013】本手段においては、発光ダイオードは、各波長ごとに複数個設けられているので、観察する試料面が広い場合でも、十分な強度の励起光を試料面に照射することができる。

【0014】

【発明の実施の形態】図1は本発明の実施の形態の1例である蛍光顕微鏡の光学系を示す概要図である。光源としての発光ダイオード1、2、3から発せられた光束が投光管20に配置されたレンズ21、22とダイクロイックミラー13を介して対物レンズ23の像側焦点位置に結像される。対物レンズ23の像側焦点面に結像された光源は平行光束となってステージ32上の試料面を照明する。光源にはそれぞれ別の波長の発光ダイオードが用いられ、例えば光源1、2、3に順に青色発光ダイオード、緑色発光ダイオード、赤色発光ダイオードなどがそれぞれ用いられる。

【0015】電流供給装置30は、発光ダイオードを、それぞれの波長の発光ダイオードごとに点滅制御することが可能であり、必要に応じてそれぞれの波長の光を放出する発光ダイオードが選択的に点灯されて試料を照明する。発光ダイオードは、光軸に垂直な面内に2次元的に配置し、異なる波長の発光ダイオードごとに、それぞれが均等になるようにするのがよい。また、望ましくは電流供給装置30によってそれぞれの発光ダイオードに流す電流値を制御して、照明光の強度を制御するのがよい。

【0016】光源配置の例を図2に詳しく示す。図2の左方は断面図であり、右方は光軸方向から見た図である。各色の発光ダイオード、それぞれ青色発光ダイオード1、緑色発光ダイオード2、赤色発光ダイオード3が、軸に垂直な面内にバランス良く配置されている。これらの発光ダイオードは、発光の広がりを中心方向が光軸に平行になるように調整される。そして図1における配置においては、すべての発光ダイオードは、対物レンズ23の像側焦点面（＝照明側の前側焦点面）の共約面上配置されているので、それぞれの光源から発する光は、対物レンズ23の作用により試料をケーラー照明することになり、試料は様な強度の光で照明される。

【0017】試料より発生した、照明波長とは異なる波長の蛍光光束は、対物レンズ23で集光され、さらに、ダイクロイックミラー13を透過して、波長選択フィルター14によって選択され、結像レンズ24によって観察像17が形成される。観察像は観察者に観察しやすいようにミラー15、16で折り曲げられ、接眼レンズ2

5を介して拡大され、観察者の肉眼26で観察される。

【0018】また、ミラー15は移動可能に配置されており、光路から外れた場合には観察像18が形成され配置されたCCDなどの撮像素子33によって撮像され、モニタ34上で観察される。

【0019】発光ダイオードの波長と試料の関係の例では、生物分野で良く用いられる蛍光試薬フルオレセインを用いた試料を観察するときには、475nmの青色発光ダイオードを用い、ダイクロイックミラーには505nmを境に短波長側で反射、長波長側で透過する特性を持つミラーが良く、さらに波長選択フィルターには520nm以上を透過する特性のものが選択される。

【0020】さらに、発光ダイオードの波長としては、たとえば、400～500nmの範囲の波長の光を放出するもの、500～600nmの範囲の波長の光を放出するもの、600～700nmの範囲の波長の光を放出するものを選んで設けておけば、それぞれ青色系、緑色系、赤色系の励起光で試料を照明することができる。また、最近開発された紫外領域の光を放出する発光ダイオードを用いれば、紫外光を励起光として用いることもできる。

【0021】ダイクロイックミラー13と波長選択フィルター14は、選択された発光ダイオードの波長に応じて交換するようにしてもよいが、それぞれマルチバンドの分光透過率を有するものを使用すれば、それぞれ1枚で済ますことも可能である。

【0022】

【発明の効果】以上説明したように、本発明によれば、安価な発光ダイオードを用い、簡単な光学系構成で所望の蛍光観察装置が形成されるため、全体として装置が安価になる。さらに発光ダイオードは寿命が長いために、長時間使用の目的に極めて都合が良い。また、各波長の発光ダイオードを目的に応じて切り替えることで、従来の蛍光顕微鏡などで用いられていた励起フィルターも不要になり、構成が簡単になる上に原理的に他の波長の照明光は発生しないため、背景光（バックグラウンド）が低くなり、蛍光シグナルとの比S/B（S/Bレシオ）が改善される。また、発光ダイオードは消費電力も小さく熱も発生せず小型であるため、顕微鏡で問題になる熱の発生もほとんど無いという極めて優れた特徴がある。

【図面の簡単な説明】

【図1】本発明の実施の形態の1例である蛍光顕微鏡の光学系を示す概要図である。

【図2】本発明の実施の形態の1例における光源配置の例を示す図である。

【図3】従来用いられている蛍光顕微鏡の光学系を示す概要図である。

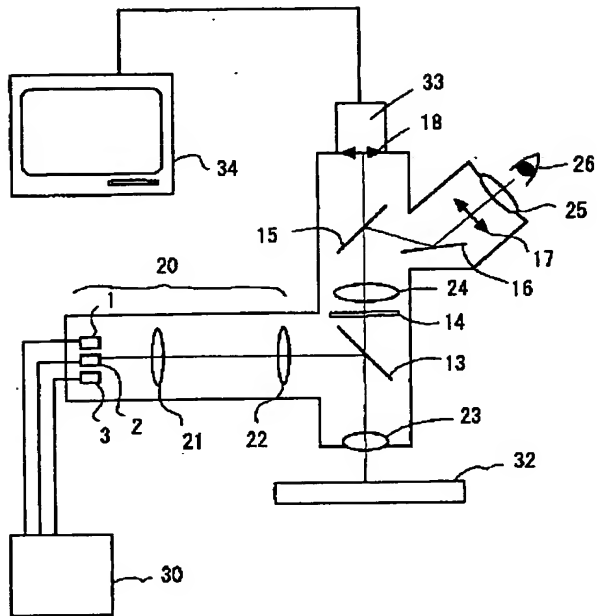
【符号の説明】

1、2、3…光源、13…ダイクロイックミラー、14…波長選択フィルター、15、16…ミラー、17…観

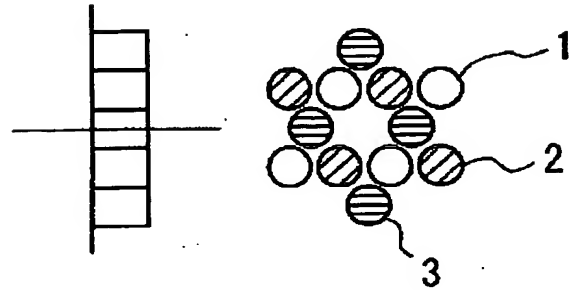
察像、20…投光管、21、22…レンズ、23…対物
 レンズ、24…結像レンズ、25…接眼レンズ、26…

肉眼、30…電流供給装置、32…ステージ、33…撮
 像素子、34…モニタ

【図1】



【図2】



【図3】

